

## 低酸素暴露解除後の動脈系化学受容器におけるペプチド性神経支配

Peptidergic innervation in the arterial chemoreceptors  
after the termination of chronic hypoxia

日下部 辰三\*, 林 田 嘉朗\*\*

Tatsumi KUSAKABE\* and Yoshiaki HAYASHIDA\*\*

動脈系化学受容器（頸動脈小体）の低酸素暴露実験の多くが、低酸素暴露中の構造および機能の変化を検討したものであり、低酸素暴露解除後の変化についての報告は極めて少なく、血液中の酸素および炭酸ガスの化学受容に関する“構造－機能連関”を究明する為には、低酸素暴露解除後の形態変化ならびに生理応答をもふまえた検討が必要であることは言うまでもない。この様な観点から、昨年度は前段階として低酸素暴露解除後の頸動脈小体の動態ならびに小体内血管の動態を組織計測することにより、低酸素暴露解除後の化学受容器の形態変化について考察を加えた。

本研究課題では、低酸素暴露解除後の頸動脈小体を対象に、化学受容調節に大いに関与する神経支配の変化を各種神経ペプチドを指標に免疫組織化学的に検討した。

Wistar系ラット（7週令）を低酸素環境下（Hypocapnic Hypoxia：10% O<sub>2</sub> in N<sub>2</sub>）にて8週間飼育した。その後正常環境下（大気圧）に戻し、1週、2週、4週および8週後に試料を採取した。4%パラホルムアルデヒドおよび2%ピクリン酸を含む0.1Mリン酸緩衝液で灌流固定し、頸動脈小体を採取した。常法に従い10 μmの凍結切片

を作成し、Hematoxylin Eosin（HE）染色を施した。500倍に拡大したモニター上で頸動脈小体の長径と短径、および小体内血管の短径をARGUS 100を用いて組織計測し、形態変化の基準とした。免疫組織化学的検討には、4%パラホルムアルデヒドを含む0.1Mリン酸緩衝液で灌流固定した頸動脈小体から、常法に従い16 μmの凍結連続切片を作成した。一次抗体としては、Substance P（SP）、Calcitonin gene-related peptide（CGRP）、Vasoactive intestinal polypeptide（VIP）、およびNeuro peptide Y（NPY）に対するウサギ抗血清を使用し、PAP法に従い免疫染色した。形態観察の為には一部の切片をHematoxylin Eosin（HE）染色し、上記手法に従い単位面積（10<sup>4</sup> μm<sup>2</sup>）当たりのvaricosity数を測定し（ARGUS 100）、低酸素暴露解除群とコントロール群で比較した。

SPおよびCGRP陽性線維の密度は、低酸素暴露解除後に徐々に回復傾向を示した。解除後8週のSPおよびCGRP線維の単位面積（10<sup>4</sup> μm<sup>2</sup>）当たりのvaricosity数密度はそれぞれ7.8 ± 1.2および17.2 ± 2.3となり、ほぼ正常環境下の密度（SP：8.5 ± 1.1、CGRP：20.7 ± 2.0）にまで回復した（図1）。VIP陽性線維の単位面積（10<sup>4</sup> μm<sup>2</sup>）当たりの密度は、低酸素暴露解除後1週（15.3 ± 4.0）

\* 国士舘大学体育学部スポーツ医科学科（Department of Sport and Medical Science, Kokushikan University）

\*\* 四天王寺国際仏教大学（International Buddhist University）

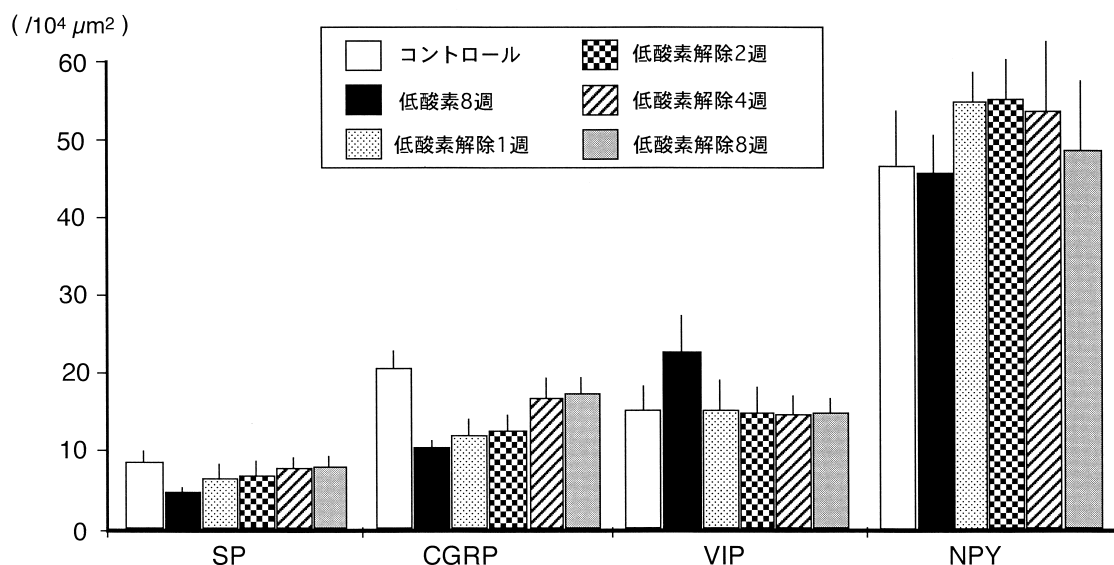


図1 低酸素暴露解除後のペプチド性神経線維の分布密度

ですすでに正常環境下レベル ( $15.1 \pm 3.1$ ) にまで回復傾向を示した (図1)。NPY陽性線維の単位面積 ( $10^4 \mu\text{m}^2$ ) 当たりの密度は、低酸素暴露解除8週 ( $45.7 \pm 4.8$ ) では正常環境下レベル ( $46.6 \pm 7.1$ ) と変化は認められなかったが、低酸素暴露解除後1週 ( $54.7 \pm 3.8$ )、2週 ( $55.3 \pm 4.8$ ) および4週 ( $53.5 \pm 9.5$ ) で有意 ( $p < 0.005$ ) な増加傾向を示した (図1)。

ラットを長期間低酸素暴露すると、頸動脈小体は数倍にも肥大する。3ヶ月間低酸素暴露後の肥大した頸動脈小体では、VIP線維の単位面積当たりの密度は1.8倍に増加 ( $p < 0.01$ ) し、SPおよびCGRP線維は50%以下に減少 ( $p < 0.005$ ,  $p < 0.01$ ) するが、NPY線維の密度には変化が見られないことを既に報告している。本研究課題において、長期間低酸素暴露後に正常環境下に戻すとSPおよびCGRP陽性線維の密度は徐々に回復する傾向を示したが、VIP陽性線維は解除1週後で既に回復しており、含有するペプチドの種類により分布密度の回復傾向には差が認められた。一方、NPY陽性線維の密度は長期間の低酸素暴露後には有意

な変化は認められなかったが、暴露解除後1週から4週の間で有意な増加が認められた。低酸素暴露後の血管拡張は一部にはVIP線維の血管拡張作用による可能性を考えているが、これに合わせて低酸素暴露解除後の血管収縮は、一部には血管収縮性のNPY線維が関与している可能性も示唆される。

低酸素暴露解除後1週で、頸動脈小体は小体内血管の縮小を伴う著明な縮小化が始まり、暴露解除後4週から8週にかけてはほぼ正常環境下の形態像にもどることを昨年度報告したが、本研究課題により、低酸素暴露解除による頸動脈小体の縮小化のメカニズムに各種神経ペプチドの関与することが推察された。これらの所見から、高地トレーニング後の呼吸および循環動態を推測するうえで極めて重要な基礎データを提供するものである。

本研究は国士舘大学体育学部体育研究所・平成20年度研究助成ならびに文部科学省・平成20年度科学研究費補助金 (基盤研究C) により行なわれた。